昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, June 2015, 58(6): 680 - 687 doi:10.16380/j.kcxb.2015.06.013

朱砂叶螨刺吸胁迫对玉米防御信号分子的诱导作用

朱玉溪[1], 杨群芳[1,*], 黄玉碧[1,2], 李 庆[1], 刘应红[2], 蒋春先[1], 王海建[1]

(1. 四川农业大学农学院, 成都 611130; 2. 四川农业大学玉米研究所, 成都 611130)

摘要:【目的】探明朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 持续为害对玉米 *Zea mays* 叶片内茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、乙烯(ethylene, ET)、一氧化氮(nitricoxide, NO)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)6 个防御信号分子的诱导作用。【方法】室内人工接螨(10, 20 和 30 头/叶),采用分光光度法(SP)、高效液相色谱法(HPLC) 和酶联免疫法(ELISA),测定了朱砂叶螨持续为害 0, 24, 48, 72 和 96 h 后,玉米幼苗叶片内 6 个信号分子的含量。【结果】朱砂叶螨持续刺吸为害玉米幼苗叶片后,JA, ABA 和 H_2O_2 3 个信号分子含量在叶螨刺吸为害 24 h 内迅速上升,在 24 h 时达高峰值,叶螨密度为 30 头/叶时其含量分别为同期未接螨对照的 4.13, 3.84 和 3.20 倍,24 - 48 h 内迅速下降;此后,ABA 和 H_2O_2 含量维持在较低水平,而 JA 含量在48 - 96 h 内又上升至次高峰值。NO 含量则在 24 - 48 h 内上升较快,48 h 时达最高,叶螨密度为 30 头/叶时其含量为同期未接螨对照的 5.09 倍。SA 和 ET 含量在 96 h 内均随刺吸时间的延长而增大, 96 h 时最高,叶螨密度为 30 头/叶时其含量分别为同期未接螨对照的5.17和 2.99 倍。叶螨密度为 30 头/叶时,6 个信号分子含量均显著高于同期未接螨对照($P < 0.05$)。【结论】朱砂叶螨为害对玉米叶片内 JA, SA, ET, NO, ABA 和 H_2O_2 均具有诱导作用,且 6 个信号分子在叶螨持续为害玉米叶片后循序被诱导。

关键词: 朱砂叶螨; 玉米; 防御信号分子; 茉莉酸; 水杨酸; 乙烯; 一氧化氮; 脱落酸; 过氧化氢

中图分类号: Q968 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2015)06-0680-08

Induction of defense signal molecules in response to *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) infestation in *Zea mays*

ZHU Yu-Xi[1], YANG Qun-Fang[1,*], HUANG Yu-Bi[1,2], LI Qing[1], LIU Ying-Hong[2], JIANG Chun-Xian[1], WANG Hai-Jian[1] (1. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract:【Aim】This study aims to investigate how infestation of *Tetranychus cinnabarinus* induces the generation of six defense signal molecules, including jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA), ethylene (ET), nitricoxide (NO), abscisic acid (ABA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in leaves of *Zea mays* seedlings.【Methods】We measured the contents of the signal molecules in leaves of corn seedlings at 0, 24, 48, 72 and 96 h after inoculation of *T. cinnabarinus* (10, 20 and 30 individuals per leaf) by using spectrophotometry (SP), high-performance liquid chromatography (HPLC) or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).【Results】Our data demonstrated that the contents of JA, ABA and H_2O_2 in leaves of corn seedlings infected by *T. cinnabarinus* increased rapidly within 24 h after infestation, and peaked at 24 h after inoculation of 30 individuals per leaf, which were 4.13-, 3.84- and 3.20-fold as high as those of the un-inoculated control, respectively. Subsequently, the contents of JA, ABA and H_2O_2 in the infected group descended sharply from 24 to 48 h after infestation. The contents of ABA and H_2O_2 in the infected group stayed at a low level from 48 to 96 h after infestation, whereas the JA

基金项目: 国家转基因专项"抗病虫、抗除草剂转基因玉米新品种培育"(2011ZX08003-001)
作者简介: 朱玉溪, 男, 1988 年生, 甘肃西和人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生态及害虫综合治理, E-mail: zhuyxscau@hotmail.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: lmk94811@163.com
收稿日期 Received: 2014-02-14; 接受日期 Accepted: 2015-04-24

content in the infected group reached another peak at 96 h after infestation. The NO content in the infected group rose up from 24 to 48 h after infestation, peaked at 48 h after inoculation of 30 individuals per leaf, which was 5.09-fold as high as that of the control. The contents of SA and ET in the infected group had been increasing during the whole time of infestation, and peaked at 96 h after inoculation of 30 individuals per leaf, which were 5.17 and 2.99-fold as high as those of the control, respectively. The contents of the six signal molecules in leaves of corn seedlings infested by 30 individuals per leaf were significantly higher than those in the un-inoculated control. 【Conclusion】The results suggest that the infestation of *T. cinnabarinus* induces the accumulation of JA, SA, ET, NO, ABA and H_2O_2 in leaves of corn seedlings, which are activated sequentially during infestation process.

Key words: *Tetranychus cinnabarinus*; *Zea mays*; defense signal molecules; jasmonic acid; salicylic acid; ethylene; nitricoxide; abscisic acid; hydrogen peroxide

植物在与昆虫长期协同进化过程中,形成了多种防御反应机制。植物受到害虫为害后,会启动其诱导防御机制(Karban and Baldwin,1997)。植物激素水杨酸(salicylic acid, SA)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、乙烯(ethylene, ET)和脱落酸(abscisic acid, ABA),以及自由基一氧化氮(nitric oxide, NO)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)是参与虫害诱导防御反应的重要信号分子(Morkunas *et al*., 2011; Mai *et al*., 2013, 2014; 孙兴华等, 2014),它们可激活相关信号途径,诱导受害植物体内防御基因的表达与防御化合物的合成,在一定程度上抵御害虫的为害(Maleck and Dietrid, 1999; Kessler and Baldwin, 2002; Howe and Jander, 2008)。在植物复杂的信号传导网络中,各个信号分子或独立,或协同或拮抗性地作用(Winz and Baldwin, 2001)。目前,国内外有关虫害对信号分子的诱导作用研究主要集中在探讨虫害对植物体内某1~2个信号分子是否具有诱导作用,而少有涉及植物体内多个信号分子被诱导产生的顺序。已有大量研究表明,害虫为害对其寄主植物体内某些信号分子具有诱导作用。例如,麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* 和苜蓿斑蚜 *Therioaphis maculate* 为害能诱导其寄主植物叶片内ET大量累积(Dillwith *et al*.,1991; Anderson and Peters, 1994),豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 为害可诱导豌豆叶片内 H_2O_2 含量显著升高(Mai *et al*., 2013),褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 为害后水稻叶片内ABA和SA 2个信号分子含量显著上升(王霞等, 2007; 刘井兰等, 2010),南美斑潜蝇 *Liriomyza huidobrensis* 幼虫为害能诱导黄瓜叶片内JA和SA 2个信号分子含量增加(孙兴华等, 2014)。Mai等(2014)进一步揭示了豌豆蚜 *A. pisum* 持续为害对豌豆叶片内JA, SA, ET和NO 4个信号分子的诱导作用,以及信号分子被诱导产生的顺序。有关叶螨为害对玉米体内信号分子的诱导作用未见研究报道。

近年来,我国玉米朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 发生逐年加重,甚至成为制约玉米生产的主要有害生物之一(熊敏等, 2014)。朱砂叶螨与玉米相互作用的研究大多集中在抗性材料的鉴定筛选等方面(金达生等, 1992; 白永新等, 2008; 熊敏等, 2014),相互作用机理尚不十分明确。作者在研究了朱砂叶螨为害对玉米体内防御酶、丙二醛和丁布等次生物质影响的基础上(另文发表),本研究以玉米自交系“H1014168”为材料,通过测定不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害玉米0－96 h时,叶片内JA, SA, ET, NO, ABA和 H_2O_2 6个防御信号分子的含量,研究了叶螨刺吸胁迫对玉米叶片内6个防御信号分子的诱导作用,以初步探明玉米对朱砂叶螨的诱导防御机制,进一步为害螨综合防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试植物和试虫

供试玉米 *Zea mays* 自交系“H1014168”,由四川农业大学玉米研究所提供。

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus*,采自田间玉米叶片,室内饲养在置于人工气候箱(温度为28±1℃,相对湿度为65%±5%,光照为16L∶8D)内的盆栽蚕豆苗上,扩大繁殖,备用。

1.2 试剂及仪器

水杨酸(salicylic acid,99.5%)、乙腈(acetonitrile,99.5%)、甲醇(methanol,99.5%)、乙酸乙酯(ethyl acetate,99.8%)、环戊烷(cyclopentane,99.5%)、异丙醇(isopropyl alcohol,99.7%)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、三氯乙酸(trichloroacetic acid)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、氧合血红蛋白

(oxyhemoglobin)和4 -(2-吡啶偶氮)间苯二酚(4-(-2-pyridylazo) resorcinol)均购自 Rgent 公司,草酸钛钾(potassium-titanium)购自 Adamas 公司,JA ELISA 试剂盒和 ET ELISA 试剂盒购自中国农业大学化控研究室,ABA ELISA 试剂盒购自南京农业大学农学系植物激素研究室。

Lab Alliance Model 201 HPLC 仪(美国 Lab Alliance 公司),UV-1700 紫外分光光度计(日本岛津公司),MIKRO-22R 高速冷冻离心机(德国 Hettich 公司),MDF-C8 超低温冰箱(日本三洋公司)。

1.3 接螨处理

精选籽粒饱满的玉米种子经表面消毒,无菌水漂洗干净,浸种 24 h,置于培养箱内(温度为 25 ± 1℃)催芽。待胚根长到 1.5 ~ 2.0 cm 时,选取露白一致的种子播种于营养钵(30 cm × 28 cm × 30 cm)内,然后置于人工气候室(温度为 27 ± 1℃,相对湿度为 70% ± 5%,光照为 14L: 10D)内培养,待幼苗长至 3 叶 1 心期时间苗,选取健壮且长势相同的玉米幼苗用于接螨试验。

试验共设置 10, 20 和 30 头/叶 3 个叶螨密度处理,以不接螨为对照。接螨时,挑选雌成螨,用软毛笔小心转移到供试玉米幼苗叶片上,然后置于人工气候室内培养。试验期间每天观察并及时剔除幼螨与若螨,保证接螨处理叶片雌成螨数量恒定。分别于接螨前和接螨后 24, 48, 72 和 96 h 剪取玉米幼苗叶片, -80℃超低温冰箱保存,用于信号分子含量的测定。各处理和对照均设 3 次重复。

1.4 信号分子含量的测定

1.4.1 茉莉酸(JA)含量的测定:称取 0.30 g 玉米叶鲜样,在液氮冷却条件下粉碎,加入 600 μL 80% 甲醇(含 1% 聚乙烯吡咯烷酮 PVP)提取 4 h,4℃下 10 000 r/min 离心 20 min,沉淀重复提取1 次,合并上清液,用高纯氮气吹干,用酶联免疫法,按试剂盒说明进行测定。JA 含量单位为 ng/g FW。

1.4.2 水杨酸(SA)含量的测定:参照 Yalpani 等(1993)的方法,采用高效液相色谱法进行测定。称取 0.50 g 鲜样,液氮冷却条件下粉碎,加入 90% 甲醇,4℃下 12 000 r/min 离心 10 min,沉淀重复提取 1 次,合并上清液,高纯氮气吹干。残渣加入有机混合液(乙酸乙酯: 环戊烷: 异丙醇 = 100: 99: 1, v/v/v)萃取 3 次。有机相氮气吹干。用乙腈 500 μL 溶解,过 0.2 μm 滤膜。检测波长为 295 nm,激发波长为 405 nm,进样量为 20 μL,柱温为 25 ℃,流速为1.0 ml/min,色谱柱为 C_{18}。SA 含量单位用 ng/g FW 表示。

1.4.3 乙烯(ET)含量的测定:称取 0.30 g 玉米叶鲜样,液氮冷却条件下粉碎,加入 300 μL 乙醚超声仪加冰提取 30 min,在 4℃下 12 000 r/min 离心 10 min,沉淀重复提取 1 次,合并上清液,高纯氮气吹干。用酶联免疫法,按试剂盒说明进行测定。ET 含量单位用 ng/g FW 表示。

1.4.4 过氧化氢(H_2O_2)活性的测定: 参照 Becana 等(1986)的方法。称取 0.50 g 玉米叶鲜样,液氮条件下磨碎,加入 5% 三氯乙酸和 0.1 g 活性炭匀浆,过滤后滤液 4℃下 12 000 r/min 离心 30 min。加入 100 mmol/L pH 8.4 磷酸钾缓冲液[含 0.6 mmol/L 4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚: 0.6 mmol/L 草酸钛钾, 1: 1(v/v)]反应,采用紫外分光光度计在波长 508 nm 测量吸光度值,5% 三氯乙酸做参比。用 30% H_2O_2 制作标准曲线。H_2O_2 含量单位用 μmol/g FW 表示。

1.4.5 一氧化氮(NO)活性的测定: 参照 Murphy 和 Noack(1994)的氧合血红蛋白法。称取 0.50 g 玉米叶鲜样,加 100 U 过氧化氢酶(CAT)和 100 U 超氧化物歧化酶(SOD)反应 5 min 除去活性氧(ROS)的干扰,加入 5 mmol 氧合血红素反应 2 min,4℃下 10 000 r/min 离心 30 s,用紫外分光光度计测量每分钟氧合血红蛋白转换成正铁血红蛋白吸光值计算 NO 含量。NO 含量单位用 nmol/g FW · min 表示。

1.4.6 脱落酸(ABA)含量的测定: 称取 0.30 g 玉米叶鲜样,液氮冷却条件下粉碎,加入 80% 甲醇提取 4 h,在 4℃下 10 000 r/min 离心 10 min,沉淀重复提取 1 次,合并上清液,用高纯氮气吹干,用酶联免疫法,按试剂盒说明进行测定。ABA 单位用 nmol/g FW 表示。

1.5 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 2003 和 SPSS17.0 软件进行数据统计分析。对同一时间不同叶螨密度处理的信号物质含量进行 Duncan 氏新复极差法检验($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内茉莉酸含量变化

朱砂叶螨刺吸为害 24 h 内,玉米叶片内 JA 含量迅速上升。24 h 时,在 10, 20 和 30 头/叶 3 个叶螨密度处理中,以 30 头/叶处理的叶片内 JA 含量为

最高，为 91.28 ± 6.28 ng/g FW，分别是接螨前(0 h)和同期未接螨对照的 2.84 和 4.13 倍，且显著高于 48，72 和 96 h。以后，JA 含量在 24 – 48 h 内迅速下降，48 – 96 h 内又呈上升趋势。持续刺吸 96 h 时，3 个叶螨密度处理中，以 20 头/叶的处理叶片内 JA 含量最高，为 83.34 ± 3.82 ng/g FW，分别是接螨前(0 h)和同期未接螨对照的 2.59 和 2.67 倍，且显著高于 24，48 和 72 h。而对照处理叶片内 JA 含量在 96 h 内均在较小范围内波动(22.11 ± 5.28 ~ 32.19 ± 3.15 ng/g FW)。此外，3 个密度的朱砂叶螨刺吸为害 24，48，72 和 96 h 时，玉米叶片内 JA 含量均显著高于同期未接螨对照处理($P < 0.05$)(图 1)。

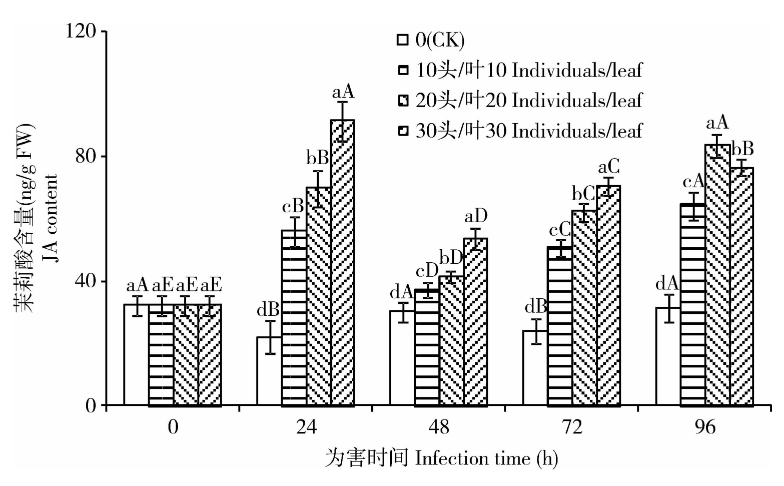


图 1　朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内茉莉酸(JA)含量变化

Fig. 1　Variation of jasmonic and (JA) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

图中数据为平均值 ± 标准误。柱上不同小写与大写字母分别表示同一时间点不同处理间与同一处理不同时间点间 Duncan 氏新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。下图同。Data in the figure are mean ± *SE*. Different lowercase letters and capital letters above bars indicate significant difference among different treatments tested and different time, respectively, by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$). The same for the following figures.

2.2　不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内水杨酸含量变化

朱砂叶螨刺吸为害 96 h 内，10，20 和 30 头/叶 3 个叶螨密度处理的玉米叶片内 SA 含量随着刺吸时间的延长一直呈上升趋势，尤以 48 h 后上升较快，96 h 时达最大，均显著高于其余时间点，其中，以 30 头/叶处理的叶片内 SA 含量最大(94.31 ± 5.41 ng/g FW)，为接螨前的 5.47 倍，同期对照的 5.17 倍，以 10 头/叶处理的叶片内 SA 含量最小(56.93 ± 5.72 ng/g FW)，为接螨前的 3.30 倍，同期未接螨对照的 3.12 倍。此外，朱砂叶螨刺吸为害 48，72 和 96 h 时，SA 含量均随叶螨密度的增大而升高，3 个叶螨密度处理的玉米叶片内 SA 含量均显著高于同期未接螨对照处理($P < 0.05$)(图 2)。

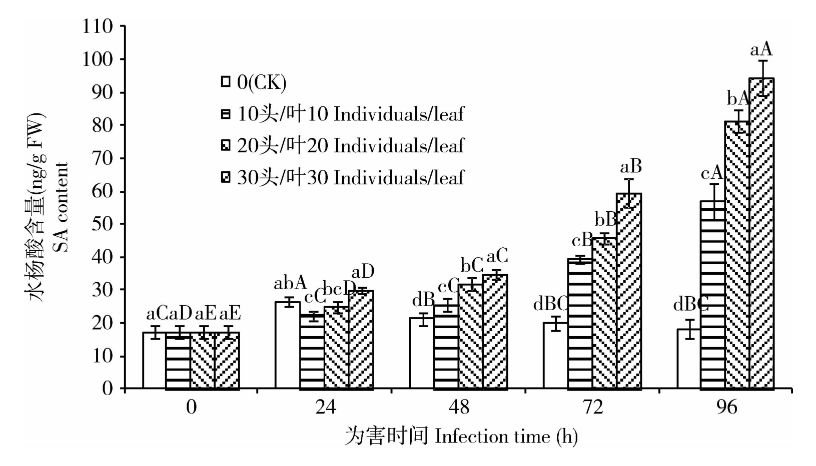


图 2　朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内水杨酸(SA)含量变化

Fig. 2　Variation of salicylic acid (SA) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

2.3 不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内乙烯含量变化

在朱砂叶螨刺吸为害 96 h 内,10, 20 和 30 头/叶 3 个叶螨密度处理的玉米叶片内 ET 含量随着刺吸时间的延长而呈上升趋势,48 – 96 h 内上升较快,96 h 时达最大,均显著高于其余时间点,其中,以 30 头/叶处理的叶片内 ET 含量为最大(23.72 ± 2.49 ng/g FW),为接螨前的 3.74 倍,同期未接螨对照的 2.99 倍,以 10 头/叶处理的叶片内 ET 含量最小(15.26 ± 1.33 ng/g FW),是接螨前的 2.40 倍,同期未接螨对照的 1.92 倍。刺吸为害 48 和 96 h 时,叶片内 ET 含量均显著高于同期未接螨对照($P < 0.05$)。96 h 内,未接螨处理的叶片内 ET 含量基本保持不变(图 3)。

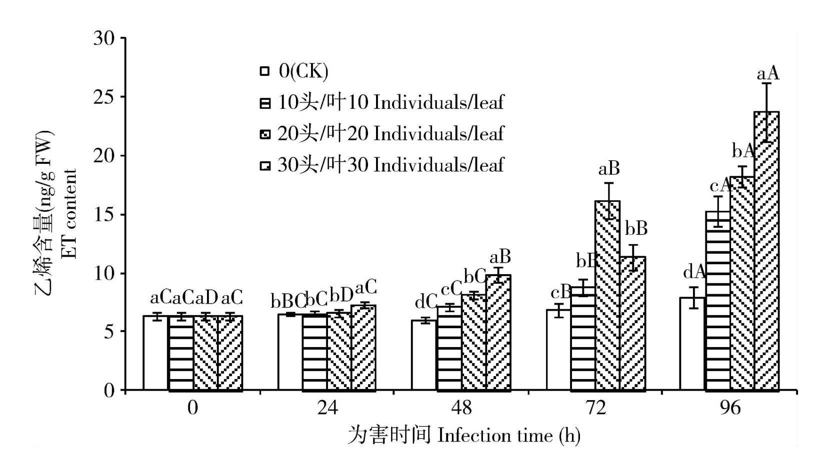


图 3 朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内乙烯(ET)含量变化

Fig. 3 Variation of ethylene (ET) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

2.4 不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内过氧化氢含量变化

玉米幼苗叶片内 H_2O_2 含量在 10, 20 和 30 头/叶 3 个密度朱砂叶螨刺吸为害 24 h 内迅速上升,24 h 时达最大,显著高于其余时间点,其中,以 30 头/叶处理的叶片内 H_2O_2 含量为最大(7.51 ± 0.56 μmol/g FW),分别为接螨前和同期未接螨对照的 4.24 和 3.20 倍,以 10 头/叶处理的叶片内 H_2O_2 含量最小(4.84 ± 0.42 μmol/g FW),是接螨前的 2.75 倍,同期未接螨对照的 2.06 倍。以后,H_2O_2 含量在 24 – 48 h 内迅速下降, 48 – 96 h 内较为稳定。除 72 h 外,3 个叶螨密度处理的叶片内 H_2O_2 含量均显著高于同期未接螨对照($P < 0.05$)(图 4)。

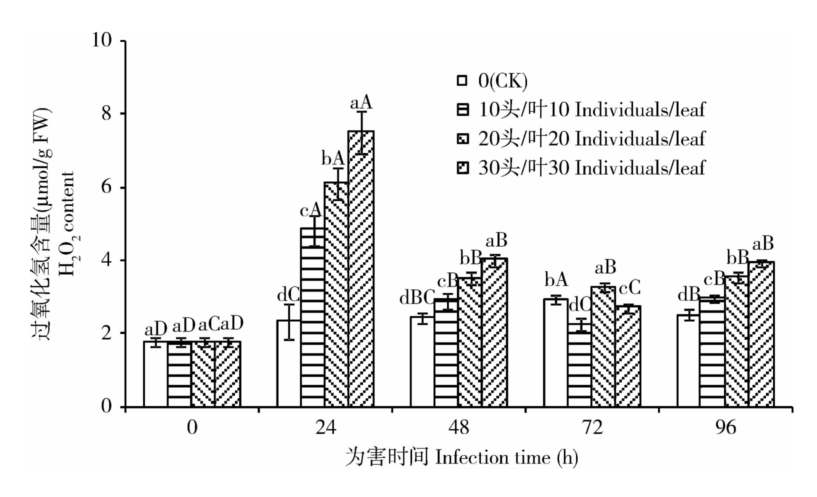


图 4 朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内过氧化氢(H_2O_2)含量变化

Fig. 4 Variation of hydrogen peroxide (H_2O_2) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

2.5　不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内一氧化氮含量变化

在朱砂叶螨刺吸为害 48 h 内,10, 20 和 30 头/叶 3 种叶螨密度处理的玉米叶片内 NO 含量均随刺吸时间的延长而呈上升趋势,尤其在 24 – 48 h 内迅速上升至最高,尤其在 24 – 48 h 内迅速上升,48 h 时达最大,均显著高于其余时间点,其中,以 30 头/叶处理的叶片内 NO 含量为最大(7. 17 ± 0. 73 μmol/g FW · min),是接螨前的 6. 40 倍,同期未接螨对照的 5. 09 倍,以 20 头/叶的处理叶片内 NO 含量为最小(4. 19 ± 0. 43 μmol/g FW · min),是接螨前的 3. 74 倍,同期未接螨对照的 2. 97 倍。以后, NO 含量在 48 – 72 h 内迅速下降,72 h 后较为稳定。3 个叶螨密度处理的朱砂叶螨刺吸为害 24, 48, 72 和 96 h 时,玉米叶片内 NO 含量均显著高于同期未接螨对照处理($P<0.05$),而对照处理的叶片内 NO 含量基本不变(图 5)。

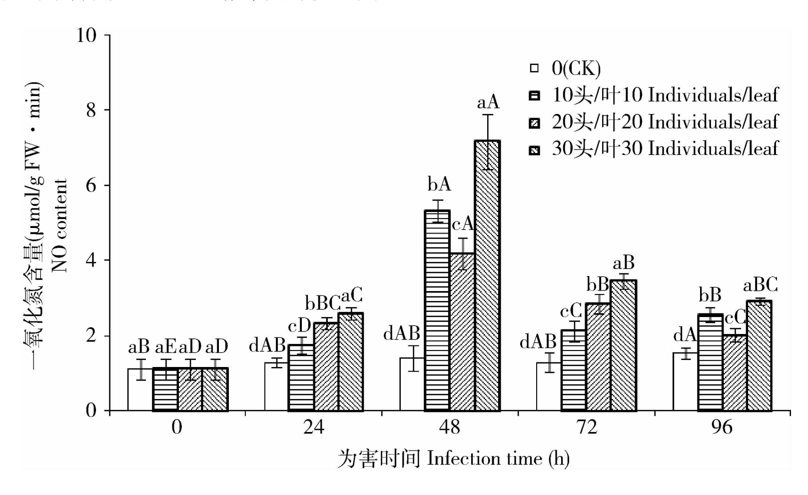


图 5　朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内一氧化氮(NO)含量变化

Fig. 5　Variation of nitric oxide (NO) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

2.6　不同密度的朱砂叶螨持续刺吸为害后玉米幼苗叶片内脱落酸含量变化

朱砂叶螨刺吸为害 24 h 内,10, 20 和 30 头/叶 3 种不同叶螨密度处理的玉米叶片内 ABA 含量均随刺吸时间的延长迅速上升,并在 24 h 时达最大,均显著高于其余时间点,其中,以 30 头/叶的处理叶片内 H_2O_2 含量为最大(7. 51 ± 0. 56 nmol/g FW),分别为接螨前和同期未接螨对照的 4. 57 和 3. 84 倍,以 10 头/叶的处理叶片内 ABA 含量为最小(0. 59 ±0. 07 nmol/g FW),是接螨前的 2. 81 倍,同期未接螨对照的 2. 36 倍。以后,在 24 – 72 h 内, ABA 含量迅速下降,在 72 – 96 h 内又缓慢上升。3 个密度的朱砂叶螨刺吸为害 24, 48, 72 和 96 h 时,玉米叶片内 ABA 含量均显著高于同期未接螨对照处理($P<0.05$)(图 6)。

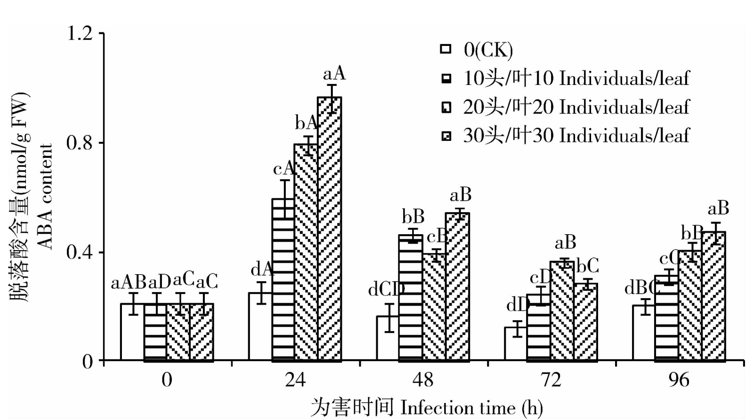


图 6　朱砂叶螨持续刺吸后玉米幼苗叶片内脱落酸(ABA)含量变化

Fig. 6　Variation of abscisic acid (ABA) content in leaves of *Zea mays* seedlings after continuous infestation of *Tetranychus cinnabarinus*

3 讨论

有关植食性昆虫为害对寄主植物体内防御信号分子诱导作用的研究多见于蚜虫等刺吸式口器昆虫(Dillwith *et al.*, 1991; Anderson and Peters, 1994; 王霞等, 2007; 刘井兰等, 2010; Morkunas *et al.*, 2011; Mai *et al.*, 2013),植食性螨类的较少见。本文研究了叶螨密度与信号分子被诱导的强度的关系,结果显示,高叶螨密度(30 头/叶)的朱砂叶螨刺吸胁迫下,玉米幼苗叶片内 H_2O_2, SA, JA, ET, NO 和 ABA 6 个信号分子含量均显著高于同期未接螨对照,叶螨刺吸可诱导 6 个防御信号分子含量增加 2~4 倍。因此,朱砂叶螨刺吸为害对玉米叶片内 H_2O_2, SA, JA, ET, NO 和 ABA 6 个防御信号分子均具有诱导作用。说明多种信号途径共同调节玉米对朱砂叶螨的防御反应。

本文进一步研究了朱砂叶螨持续刺吸为害 0－96 h 后,玉米叶片内 H_2O_2, SA, JA, ET, NO 和 ABA 6 个防御信号分子含量的变化动态,结果表明:随着叶螨的持续刺吸,6 个信号分子在不同的时间点被诱导产生,JA, ABA 和 H_2O_2 3 个信号分子首先被诱导产生,其含量在 10, 20 和 30 头/叶 3 个密度的叶螨刺吸 24 h 时便达高峰值,均显著高于其余时间点;随后是 NO,其含量在 48 h 时累积至高峰值,3 个密度下均显著高于其余时间点;然后再是 SA 和 ET,其含量在 96 h 时达最高,3 个密度下均显著高于其余时间点;而 JA 含量在 96 h 时又出现次高峰值。我们的研究结果中,JA, H_2O_2, NO 和 SA 4 个信号分子被诱导产生的时间与 Mai 等(2013, 2014)研究结果一致,而 ET 的差异较大,豌豆持续蚜为害后,ET 含量在 48 h 即达高峰值。

植物体内不同的信号分子介导特定的信号传导途径,激活相应的防御反应,而且各种信号途径途经之间或拮抗或协同作用(Winz and Baldwin, 2001),其中以 SA, JA, ET 和 NO 介导的防御反应途经及其之间的相互作用较为清楚。尽管叶螨和蚜虫刺吸仅对寄主叶片造成微小创伤,JA 作为植物启动创伤诱导防御反应的信号分子(Howe, 2004),在几种信号分子中最早被诱导大量产生,从而介导相关信号途径,激活防御反应,以抵御叶螨和蚜虫刺吸对寄主植物叶片组织的进一步损伤。已有的研究表明,NO 也与植物的创伤诱导防御反应有关,位于 SA 介导的信号途径的上游,SA 甚至可在植物受到机械损伤后的数分钟内即被大量诱导产生(Huang *et al.*, 2004)。蚜虫为害主要诱导 SA 介导的信号途径(刘勇等, 2011),豌豆蚜持续为害后,SA 含量随刺吸时间逐渐升高,96 h 达最高(Mai *et al.*, 2014)。朱砂叶螨刺吸为害可能主要诱导 SA 和 ET。SA 在特定的水平会抑制 JA 的产生(Mur *et al.*, 2006),JA 与 ET 能协同激活编码防御蛋白(如蛋白酶抑制剂)的基因(秦秋菊和高希武, 2005)。在玉米对叶螨为害的诱导防御反应中,JA, ABA 和 H_2O_2 之间,以及 SA, ET 和 JA 之间,可能具有协同作用。弄清参与叶螨为害诱导的玉米防御反应的信号分子之间的相互作用,可以更好地了解叶螨与玉米的相互作用,明确玉米对螨害的诱导防御机制。

参考文献(References)

Anderson JA, Peters DC, 1994. Ethylene production from wheat seedlings infested with biotypes of *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Physiol. Chem. Ecol.*, 23: 992－998.

Bai YX, Chen BG, Zhang RS, Lu GH, 2008. Resistance identification and analysis of the maize germplasm to maize red spider. *Journal of Maize Sciences*, 16(6): 121－122, 125. [白永新, 陈保国, 张润生, 卢桂花, 2008. 玉米五大种质对红蜘蛛抗性的鉴定与分析. 玉米科学, 16(6): 121－122, 125]

Becana M, Aparicio-Tejo P, Irigoyen JJ, Sanchez-Diaz M, 1986. Some enzymes of hydrogen peroxide metabolism in leaves and root nodules of *Medicago sativa*. *Plant Physiol.*, 82: 1169－1171.

Delledonne M, Polverari A, Murgia I, 2003. The functions of nitric oxide-mediated signaling and changes in gene expression during the hypersensitive response. *Antioxid. Redox Signal.*, 5: 33－41.

Dillwith JW, Berberet RC, Bergman DK, Neese PA, Edwards RM, McNew RW, 1991. Plant biochemistry and aphid populations: studies on the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata*. *Arch. Insect Biochem.*, 17: 235－251.

Howe GA, 2004. Jasmonates as signals in the wound response. *J. Plant Growth Regul.*, 23: 223－237.

Howe GA, Jander G, 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 41－66.

Huang X, Stettmaier K, Michel C, Hutzler P, Mueller MJ, Durner J, 2004. Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 218: 938－946.

Jin DS, Shang YX, Liu XM, Cao XJ, 1992. Resistance identification of the maize germplasm to maize red spider. *Plant Protection*, 19(4): 26. [金达生, 商玉霞, 刘旭明, 曹秀菊, 1992. 玉米种质资源对玉米红蜘蛛的抗性鉴定初报. 植物保护, 19(4): 26]

Karban R, Baldwin IT, 1997. Induced Responses to Herbivory. University of Chicago Press, Chicago.

Kessler A, Baldwin IT, 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 299－328.

Liu JL, Wu JC, Yu JF, Yang GQ, 2010. Changes in levels of abscisic acid in roots and leaves of different rice varieties under infestation by *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(5): 531 –539.［刘井兰, 吴进才, 于建飞, 杨国庆, 2010. 褐飞虱侵害后不同水稻品种根及叶片脱落酸含量的变化. 昆虫学报, 53(5): 531 –539］

Liu Y, Sun YC, Wang GH, 2011. The induced defense and anti-defense between host plant and phloem sucker insect. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(4): 1052 –1059.［刘勇, 孙玉诚, 王国红, 2011. 植物和刺吸式口器昆虫的诱导防御与反防御研究进展. 应用昆虫学报, 48(4): 1052 –1059］

Mai VC, Bednarski W, Borowiak-Sobkowiak B, Wilkaniec B, Samardakiewicz S, Morkunas I, 2013. Oxidative stress in pea seedling leaves in response to *Acyrthosiphon pisum* infestation. *Phytochemistry*, 93: 49 –62.

Mai VC, Drzewiecka K, Jeleń H, Narożna D, Rucińska-Sobkowiak R, Kęsy J, Floryszak-Wieczorek J, Gabryś B, Morkunas I, 2014. Differential induction of *Pisum sativum* defense signaling molecules in response to pea aphid infestation. *Plant Science*, 221 –222: 1 –12.

Maleck K, Dietrid RA, 1999. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? *Trends in Plant Science*, 4(6): 215 –219.

Morkunas I, Mai VC, Gabryś B, 2011. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding. *Acta Physiol. Plant.*, 33: 2057 –2073.

Mur LAJ, Kenton P, Atzorn R, Miersch O, Wasternack C, 2006. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. *Plant Physiol.*, 140: 249 –262.

Murphy ME, Noack E, 1994. Nitric oxide assay using hemoglobin method. *Methods Enzymol.*, 233: 240 –250.

Qin QJ, Gao XW, 2005. Plant defense responses induced by insect herbivory. *Acta Entomologica Sinica*, 48(1): 125 –134.［秦秋菊, 高希武, 2005. 昆虫取食诱导的植物防御反应. 昆虫学报, 48(1): 125 –134］

Sun XH, Zhou XR, Pang BP, Meng QJ, 2014. Induction of salicylic acid and jasmonic acid in cucumber leaves after infestation by *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromizidae) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 57(1): 67 –73.［孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 孟庆玖, 2014. 南美斑潜蝇幼虫为害对黄瓜叶片中水杨酸和茉莉酸的诱导作用. 昆虫学报, 57(1): 67 –73］

Wang X, Du MH, Zhou GX, Cheng JA, Lou YG, 2007. Role of salicylic acid and H_2O_2 signaling pathways in the production of rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 33(1): 15 –23.［王霞, 杜孟浩, 周国鑫, 程家安, 娄永根, 2007. 水杨酸与过氧化氢信号途径在褐飞虱诱导的水稻挥发物释放中的作用. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 33(1): 15 –23］

Winz RA, Baldwin IT, 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. IV. Insect-induced ethylene reduces jasmonate-induced nicotine accumulation by regulating putrescine N-methyltranserase transcripts. *Plant Physiol.*, 125(4): 2189 –2202.

Xiong M, Yang QF, Huang YB, Li Q, Liu YH, Jiang CX, Wang HJ, 2014. Evaluation on antibiosis of maize inbred lines to *Tetranychus cinnabarinus*. *Plant Protection*, 40(4): 50 –53.［熊敏, 杨群芳, 黄玉碧, 李庆, 刘应红, 蒋春先, 王海建, 2014. 玉米自交系对朱砂叶螨的抗生性评价. 植物保护, 40(4): 50 –53］

Yalpani N, León J, Lawton MA, Raskin I, 1993. Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. *Plant Physiol.*, 103: 315 –321.

（责任编辑：赵利辉）